窒素キャリアガスを用いた大気圧ガスクロマトグラフタンデム型質量分析装置による農産物中の臭素分析

小林　麻紀[a]，大町　勇貴[b]，森田　有香[a]，平石　勇樹[a]，横山　知子[a]，下井　俊子[a]

農産物中の臭素分析法について検討した．試料を灰化後，臭素イオンを過マンガン酸カリウムで酸化し，遊離臭素と 3-ペンタノンとの反応で生成する 2-ブロモ-3-ペンタノンを，窒素キャリアガスを用いた大気圧ガスクロマトグラフタンデム型質量分析装置で測定した．13 品目の農産物及びその加工品（豆類及び果実）を対象に，臭素濃度が 5 mg/kg となるよう標準溶液を添加し，分析者 3 名が併行数 2 で 2 日間，又は分析者 1 名が併行数 2 で 5 日間の試験を行った．その結果，本法は「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」の目標値に適合し，試験法の妥当性が確認できた．

キーワード：残留臭素，臭化メチル，くん蒸剤，農産物，大気圧ガスクロマトグラフタンデム型質量分析装置

は　じ　め　に

臭化メチルは，非常に殺菌・殺虫効果の高いくん蒸剤として用いられている．しかし，オゾン層を保護する国際的枠組みであるモントリオール議定書締約国会合（1992 年）でオゾン層破壊物質として指定され[1]，各国で全廃に向けた取り組みが進められている．一方，検疫用途に使用する臭化メチルは全廃規制の対象外とされており，現在でも世界各国で使用されている[2-5]．

我が国においては，穀類に 50～180 ppm，豆類に 50～200 ppm，果実類に 20～150 ppm 及び乾燥果実に 20～250 ppm の残留基準値が設定されている[6]．当センターにおいても輸入農産物（穀類，穀類加工品，豆類加工品，果実及び果実加工品）について残留臭素試験を実施し[7-10]，都民の食の安全確保に努めている．

臭素の試験法として，イオンクロマトグラフ[11]，ガスクロマトグラフ（GC）[12-14]，高速液体クロマトグラフ[15,16]及び蛍光X線装置[17-19]を用いる方法が報告されているが，当センターでは，GCで測定する消費者庁の通知試験法[20]に準じて試験を行ってきた．

臭素の通知試験法は，試料を灰化後，臭素イオンを過マンガン酸カリウムで酸化し，遊離臭素と 3-ペンタノンとの反応で生成する 2-ブロモ-3-ペンタノン（Fig.1）を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ（ECD-GC）で測定する方法である．ECD-GC は高感度測定が可能であるが，選択性は低い．また，キャリアガスとして用いられているヘリウムは，近年の供給量不安定化や価格の高騰が問題となっている．そこで，ECD-GC より選択性及び感度の高い，窒素をキャリアガスとした大気圧ガスクロマトグラフタンデム型質量分析装置（以下，APGC）を用いた，農産物中の臭素分析法について検討を行った．

実　験　方　法

1. 試料

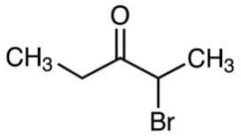
東京都内の小売店にて市販品を購入した（Table 1）．

穀類はミルで粉砕し，均一化した．

豆類加工品の水煮は煮汁を除きフードプロセッサーで均一化した．

果実は，試料採取部位[21]を細切した後，フードプロセッサーで均一化した．果実加工品のうち缶詰はシラップ液を除き，フードプロセッサーで均一化した．乾燥果実は，細切した後，フードプロセッサーで均一化した．

均一化した試料は試験実施まで－20℃で保管した．



C_5H_9BrO

MW：165.03

Fig.1. Structure of 2-Bromo-3-pentanone

[a] 東京都健康安全研究センター食品化学部残留物質研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

[b] 東京都健康安全研究センター食品化学部食品添加物研究科

2. 試薬

1） 標準溶液

臭化カリウム（特級）は富士フイルム和光純薬（株）製を用いた．臭化カリウム74.5 mgを量り，水に溶解し，正確に50 mLとして標準原液とした．標準原液1 mLは臭素イオン1.0 mgを含有する（1,000 mg/L）．この標準原液を水で希釈したものを添加回収用及び検量線用標準溶液とした．

2）その他の試薬等

3-ペンタノン（特級），過マンガン酸カリウム（特級），水酸化カリウム（特級），スルファミン酸（特級），1 mol/L硫酸（容量分析用），メチルオレンジ（特級）及び *n*-ヘキサン（残留農薬試験用）は富士フイルム和光純薬（株）製を用いた．エタノール（残留農薬試験用）は関東化学（株）製を用いた．水はMilli-Q®超純水製造装置（（株）日本ミリポア社製）により精製して用いた．

0.1 mol/L過マンガン酸カリウム溶液：過マンガン酸カリウム（特級）1.58 gを水に溶かし100 mLとした．

5%水酸化カリウム・エタノール溶液：水酸化カリウム50 gをエタノール・水（1：1）に溶かし1,000 mLにした．

10%スルファミン酸溶液：スルファミン酸5 gを水に溶かし50 mLとした．

メチルオレンジ試液：メチルオレンジ（特級）0.1 g を水に溶かし 100 mL とした．

3. 装置

1）ガスクロマトグラフタンデム型質量分析計

GC部：Agilent Technologies社製 8890

MS 部：Waters 社製 Xevo TQ- S micro

4. 測定条件

1） GC 条件

カラム：Agilent社製，DB-5MS（0.25 mm i.d. × 30 m，膜厚0.25 μm），カラム温度：50°C（1 min）-（10°C/min）-100°C（0 min）-（25°C/min）- 200°C（1 min），注入口温度：250°C，注入方法：スプリットレス，キャリアガス：窒素，注入量：1 μL

2）MS部

イオン化法：大気圧イオン化法（APCI（＋）），コロナ電流：2.0 μA，イオン源温度：150°C，インターフェース温度：320°C，コリジョンガス：アルゴン，定量イオン（*m/z*）：165→43［コーン電圧10 V，コリジョンエネルギー8 eV］，定性イオン（*m/z*）：165→57［コーン電圧10 V，コリジョンエネルギー12 eV］．

5. 分析方法

1） 灰化

試料5.0 g（穀類2.0 g）に5%水酸化カリウム・エタノール溶液5 mLを加えて混和又は乾燥品は2時間浸潤した．ホットプレートで蒸発乾固した後，電気炉で灰化（550℃，5時間）した．

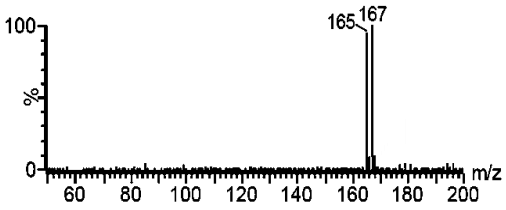


Fig.2. GC-MS/MS mass spectrum obtained scan mode for 2-Bromo-3-pentanone 1 μg/mL
ESI positive, cone voltage:10 V

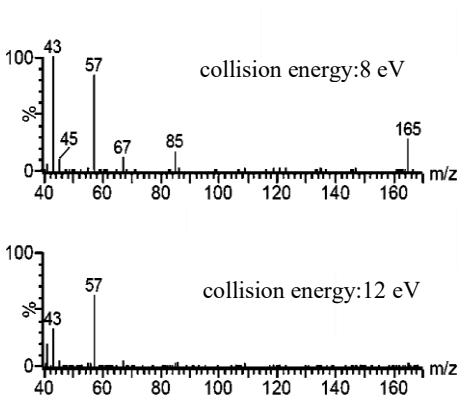


Fig.3. GC-MS/MS mass spectrum obtained scan mode for 2-Bromo-3-pentanone 1 μg/mL
ESI positive, cone voltage:10 V

室温まで放冷後，温水（40℃以上）30 mLで溶かし，ろ紙でろ過した．ろ紙上の残さを温水10 mLで洗い，ろ液を合わせた．ろ液にメチルオレンジ試液を1～2滴加え，溶液が淡赤色になるまで1 mol/L硫酸溶液（2～5 mL）を加えた後，水で全量を50 mLにした．

2） 誘導体化

1）の溶液を5 mL取り，10%スルファミン酸溶液0.1 mL，3-ペンタノン0.025 mL，0.1 mol/L過マンガン酸カリウム溶液0.25 mLを加えて混和し，1分間放置した．1 mol/L硫酸溶液0.5 mLを加えて混和し30分放置後，*n*-ヘキサン5 mLを加え3分間振とうした．*n*-ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水後，0.1～1 mLを取り，*n*-ヘキサンで10 mLにしたものを試験溶液とした．

結果及び考察

1. GC及びMS条件の検討

1）MS条件の検討

2-ブロモ-3-ペンタノンをGC-MS/MSで測定するためのMS条件の検討を行った．イオン化モードについてはAPCIを用いることとし，スキャン測定を行った．APCI（＋）モードで2-ブロモ-3-ペンタノンの$[M]^+$として*m/z* 165及び同位体の*m/z* 167が認められた（Fig.2）．

m/z 165をプリカーサーイオンとした場合，プロダクトイオンとして，*m/z* 43及び57が観測された（Fig.3）．

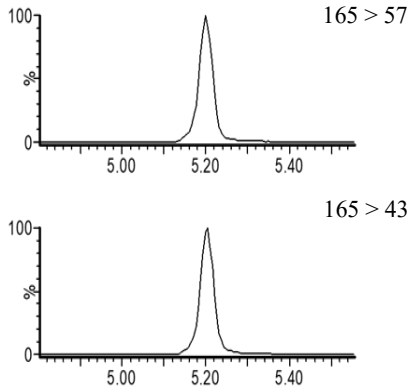


Fig.4. GC-MS/MS chromatograms obtained SRM mode for 2-Bromo-3-pentanon 5 ng/mL

SRM 測定を行った結果，高い SN 比が得られた *m/z* 43 を定量用イオンに，*m/z* 57 を定性用イオンとすることとした．

2）GC条件の検討

分析カラムは，汎用されている DB-5MS を用い，2-ブロモ-3-ペンタノンの保持時間が約 4～5 分となるように検討した．その結果，4.測定条件 1)の条件とすることで，2-ブロモ-3-ペンタノンのピーク形状，分離及び再現性について良好な結果が得られた（Fig.4）．2-ブロモ-3-ペンタノンの保持時間は 5.2 分であった．

2.灰化溶液調製温度

灰化した試料の溶解時に加温しながら行うとよい[14]との報告があり，灰化試料溶解時の水温について検討した．

それぞれ 8，23，40，60及び80℃の水又は温水で溶解した場合の回収率をFig.5に示した．

その結果，40℃以上で90%以上の回収が得られたことから，灰化溶液調製時には40℃以上で行うこととした．

3.誘導体化

1） 遠心チューブの採用

通知法における誘導体化操作では，50 mL 又は 100 mL の分液ロートを用いるが，器具の容量が大きすぎること，分液ロートの操作が煩雑であり，器具洗浄が増えることから作業者の負担となっていた．そこで，15 mL ポリプロピレン製遠心チューブ（遠心チューブ）での操作が可能か検討した．

実際に操作を行ったところ，分液ロートを用いた場合よりも誘導体化及び振とう等に時間を要した．撹拌は，容器の液高さ（LH）/内径（D）が 1.0～1.5 の場合が効率的とされている[22]．LH/D は分液ロートで 1.6（誘導体化時）又は 2（ヘキサン転溶時），遠心チューブで 3.3（誘導体化時）又は 6.6（ヘキサン転溶時）であり，遠心チューブは撹拌効率が低く，容器内での液の対流に時間を要すると.考えられた．そこで，誘導体化時間や転溶時間について検討を行った．

2） 誘導体化

(1)硫酸添加前の放置時間

誘導体化時において，硫酸添加前に反応系を放置すると再現性がよいとの報告がある[12]．そこで，1 分放置した場合と放置しなかった場合の比較を行った．その結果，放置しない場合の 2-ブロモ-3-ペンタノンの回収率は，放置した場合（93～98%）の 45～60%（*n*=3）であった．また，ばらつきがみられたことから，硫酸添加前に 1 分間放置することとした．

(2)誘導体化時間

誘導体化時間は通知法では 5 分であるが，5 分では 2-ブロモ-3-ペンタノンの生成にばらつきがみられた．また，回収率が 50～60%であったことから，誘導体化時間について検討した．

誘導体化時間を5～60分にした場合の回収率をFig.6に示した．30分以上放置することで，2-ブロモ-3-ペンタノンの生成が98%以上となったため，放置時間を30分とした．

3） 転溶時間

2-ブロモ-3-ペンタノンの *n*-ヘキサンへの転溶時間を検討した．遠心チューブでの振とうは手動で行った． 1～5 分間振とうした場合の回収率は，1 分間で 90%，2 分で 97–98%，3 分以上で 99%と，3 分以上で安定した回収が得られたことから，振とう時間は 3 分間とした．

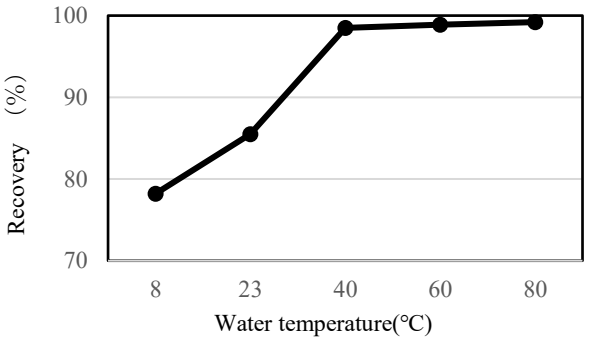


Fig.5. Comparison of recovery based on solution preparation temperature

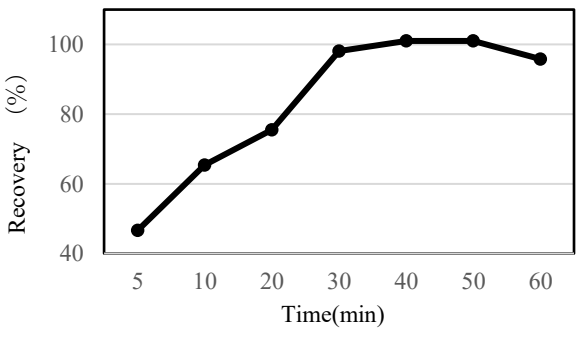


Fig.6. Effect of reaction time on the formation of 2-bromo-3-pentanon

4. 検量線

検量線用*n*-ヘキサン標準溶液を0.125 –0.75 ng/mLの範囲で5点調製し，ピーク面積で検量線を作成した．決定係数（r^2）は0.999以上で良好な直線性が得られた．

5. 妥当性評価試験

13品目の農産物及びその加工品（豆類及び果実）を対象として，分析者3名が併行数2で2日間又は，分析者1名が併行数2で5日間の添加回収試験を実施した．

各試料 5.0 g に 50 mg/L 添加用標準溶液 0.5 mL を，穀類は試料 2.0 g に 50 mg/L 添加用標準溶液 0.2 mL を添加し，30 分間放置した後，今回検討した方法で試験溶液を調製し，測定した．回収率の平均から真度，併行精度及び室内精度を算出した．

その結果，Table 1に示したように真度は76.80 – 93.9%（目標値：70 – 120%），併行精度は2.80 – 9.0%（目標値：10＞），室内精度3.1 – 12.5%（目標値：15＞）と目標値を満たした．検討したいずれの試料においても，2-ブロモ-3-ペンタノンの定量を妨害するピークは認められず，選択性も良好であった．

Table 1. Validation Results of Total Bromine Residues in Agricultural products

Sample	Trueness (%)	Repeatability (%RSD)	Within-laboratory Reproducibility (%RSD)
Grain			
Brown rice[1)]	78.0	8.4	8.4
Bean products			
Boiled			
Soy bean[1)]	82.0	9.0	10.6
Fruits and Fruits products			
Fruits			
Apple[1)]	84.4	4.5	6.5
Grape[2)]	78.7	3.0	3.4
Orange[1)]	76.8	8.8	11.3
Canned fuits in syrup[2)]			
Mandarin orange	83.3	4.7	8.4
Mango	93.9	3.7	4.8
Pear	89.0	5.6	12.5
Yellow peach	88.1	2.8	9.5
Dried fruit[2)]			
Blueberry	83.6	4.1	4.1
Cranberry	91.9	4.8	4.8
Mango	83.2	3.1	3.1
Peach	87.6	4.6	5.0
Guidline Target value[3)]			
0.1 ppm<	70 – 120	10＞	15＞

1) n =2 × 2 days × 3 analysts, 2) n =2 × 5 days × 1 analyst
3) Additive concentration is 5 mg/kg

ま　と　め

窒素キャリアガスを用いた大気圧ガスクロマトグラフタンデム型質量分析装置による農産物中の臭素試験法を検討した．試料を灰化後，臭素イオンを過マンガン酸カリウムで酸化し，遊離臭素と 3-ペンタノンとの反応で生成する 2-ブロモ-3-ペンタノンを APGC で測定した．5 mg/kg となるよう標準溶液を添加したところ，13 品目の農産物（穀類，豆類加工品，果実及び果実加工品）においてガイドラインの目標値に適合し，試験法の妥当性が確認できた．

文　　献

1) The Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer （UNEP），https://ozone.unep.org/treaties/montreal-rotocol/montreal-protocol-substances-deplete-ozone-layer（2026 年 6 月 26 日現在．なお本 URL は変更又は抹消の可能性がある）
2) 川上房男：植物防疫，**53**, 364–369, 1999.
3) 農林水産省消費・安全局植物防疫課：植物防疫，**66**, 123–127, 2012.
4) 西　和文：野菜茶業研究集報，**3**, 35–41, 2006.
5) 楯谷昭夫：植物防疫，**70**, 195–198, 2016.
6) 公益財団法人日本食品化学研究振興財団：残留農薬基準値検索システム，農薬等の基準値，臭素，https://db.ffcr.or.jp/front/pesticide_detail?id=33400（2026 年 6 月 26 日現在．なお本 URL は変更又は抹消の可能性がある）
7) 八巻ゆみこ，橋本常生，笹本剛生，他：東京健安研セ年報，**56**, 205–209, 2005.
8) 酒井奈穂子，橋本常生，牛山慶子，他：東京健安研セ年報，**63**, 237–243, 2012.
9) 酒井奈穂子，小林麻紀，上條恭子，他：東京健安研セ年報，**68**, 213–219, 2017.
10) 酒井奈穂子，小林麻紀，大町勇貴，他：東京健安研セ年報，**73**, 165–171, 2022.
11) 田口信夫，平田恵子，天川映子，他：衛生化学，**38**, 289–294, 1992.
12) 三橋隆夫，足立一彦，金田吉男：食衛誌，**28**, 130–135, 1987.
13) 三橋隆夫：食衛誌，**36**, 409–412, 1995.
14) Yamaki Y., Horii S., Hashimoto T., *et al.*: J. Food Hyg. Soc., **46**, 124–126, 2005.
15) 小玉修嗣，山本　敦，松永明信，他：富山衛研年報，**17**, 225–227, 1994.
16) 貞升友紀，井部明弘，田端節子，他：東京衛研年報，**51**, 100–104, 2000.
17) 高田千恵子，高野伊知郎，永山敏廣，他：東京衛研年報，**50**, 134–137, 1999.
18) 上條恭子，富澤早苗，八巻ゆみこ，他：東京健安研セ年報，**73**, 227–232, 2022.

19) 上條恭子，富澤早苗，中島崇行，他：東京健安研セ年報，**74**, 193–197, 2023.
20) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長：食安発第0124001 号，食品に残留する農薬，飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について（通知），平成 17 年 1 月 24 日.
21) 農薬等の残留基準試験用検体，「食品、添加物等の規格基準」第 1 食品の部　A 食品一般の成分規格 5 の（2）、6 の（2）及び 7 の（2）
https://www.ffcr.or.jp/zanryu/positive/post-123.html
（2026 年 6 月 26 日現在．なお本 URL は変更又は抹消の可能性がある）
22) 住友重機械プロセス機器（株）：撹拌講座，撹拌の基礎用語，攪拌槽・槽形状の種類，
https://www.shi-pe.shi.co.jp/products/mixing/lecture/basic000/
（2026 年 6 月 26 日現在．なお本 URL は変更又は抹消の可能性がある）

利益相反（COI）利益相反はない.

Analysis of Bromine in Agricultural Products using Atmospheric Pressure Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry using Nitrogen Carrier Gas

Maki KOBAYASHI[a], Yuki OMACHI[a], Yuka MORITA[a], Yuki HIRAISHI[a],
Tomoko YOKOYAMA[a] and Toshiko SHIMOI[a]

Bromine in agricultural products was investigated using an analytical method based on gas chromatography–tandem mass spectrometry (GC–MS/MS). Samples were alkalized and reduced to ash in an electric furnace, oxidized with potassium perman-ganate solution, and derivatized with 3-pentanone. The reaction product of 3-pentanone and free bromine (2-bromo-3-pentanone) was measured using GC–MS/MS with a nitrogen carrier gas at atmospheric pressure. Standard solutions of potassium bromid were added to 13 agricultural products (cereals, beans, and fruits), establishing a bromine concentration of 5 mg/kg. Three analysts conducted a two-day trial with a parallelism factor of two, and one analyst conducted a five-day trial with a parallelism factor of two. The method met the target values outlined in the Japanese guidelines for analysis of residual agricultural chemicals in foods, validating its applicability.

Keywords: bromine residue, methyl bromide, fumigant, agricultural products, atmospheric pressure gas chromatograph tandem mass spectrometer

[a] Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan